

BT 0
Translation

09/03/989

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

371P
1-11
RECEIVED

JUN 17 2002

TECHNICAL CENTER 1600/2900

| | | |
|---|---|---|
| Applicant's or agent's file reference 00-F-007PCT | FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416) | |
| International application No. PCT/JP00/01697 | International filing date (day/month/year) 21 March 2000 (21.03.00) | Priority date (day/month/year) 20 March 1999 (20.03.99) |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/12, C12Q 1/68, C07K 14/47, 16/18 | | |
| Applicant SHIOZAWA, Shunichi | | |

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

| | |
|---|--|
| Date of submission of the demand 05 October 2000 (05.10.00) | Date of completion of this report 27 April 2001 (27.04.2001) |
| Name and mailing address of the IPEA/JP | Authorized officer |
| Facsimile No. | Telephone No. |

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/01697

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☒ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/01697

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☒ claims Nos. 7

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 7
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

See supplemental sheet for continuation of Box III. 1.

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

☒ no international search report has been established for said claims Nos. 7

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 00/01697

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III. 1.

The invention described in Claim 7 relates to a
method for diagnosis of the human body.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 00/01697

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

| | | | |
|-------------------------------|--------|--------|-----|
| Novelty (N) | Claims | 1-6, 8 | YES |
| | Claims | | NO |
| Inventive step (IS) | Claims | 1-6, 8 | YES |
| | Claims | | NO |
| Industrial applicability (IA) | Claims | 1-6, 8 | YES |
| | Claims | | NO |

2. Citations and explanations

Document 1: WO, 98/51791, A1 (Shunichi Shiozawa), 19 November 1998 (19.11.98)

Document 2: Dina Ron et al., "Molecular cloning and characterization of the human *db1* proto-oncogene: evidence that its overexpression is sufficient to transform NIH/3T3 cells," The EMBO Journal (1988), Vol. 7, No. 8, pp. 2465-2473

Document 3: Shunichi Shiozawa et al., "Identification of the gene loci that predispose to rheumatoid arthritis," International Immunology (1998), Vol. 10, No. 12, pp. 1891-1895

The inventions described in Claims 1 to 6 and 8 involve an inventive step relative to Documents 1 to 3 cited in the international search report. Documents 1 to 3 do not specifically disclose a mutated portion of the proto-oncogene *db1* gene, and in light of the state of the art at the time of filing, neither could a person skilled in the art easily derive that feature from the disclosures of Documents 1 to 3.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 00/01697

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The "method for functional supplementation of db1 deficiency" of Claim 8 is not specifically described in the description. Rather, the description merely states that "there are methods which make use of proteins and/or low molecular compounds." (See description, page 9.)

Even considering conventional knowledge in the art at the time of filing, it would be unclear to a person skilled in the art as to specifically what would be used in what manner in order to "functionally supplement db1 deficiency" based only on the above description.

Therefore, the invention described in Claim 8 is insufficiently supported by the description.

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]


REC'D 18 MAY 2001

WIPO

PCT

| | | |
|--|---|-------------------------|
| 出願人又は代理人 の書類記号 00-F-007PCT | 今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。 | |
| 国際出願番号 PCT/JP00/01697 | 国際出願日 (日.月.年) 21.03.00 | 優先日 (日.月.年) 20.03.99 |
| 国際特許分類(IPC) Int.Cl ⁷ C12N15/12, C12Q1/68, C07K14/47, C07K16/18 | | |
| 出願人(氏名又は名称) 塩澤 俊一 | | |

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 5 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☒ 国際出願に対する意見

| | | |
|---|--|---------|
| 国際予備審査の請求書を受理した日 05.10.00 | 国際予備審査報告を作成した日 27.04.01 | |
| 名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号 | 特許庁審査官(権限のある職員) 小暮 道明 印  | 4B 9358 |
| 電話番号 03-3581-1101 内線 | | 3448 |

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

Ⅲ. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不成

1. 次に関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

☐ 国際出願全体

☒ 請求の範囲 7

理由：

☒ この国際出願又は請求の範囲 7 は、国際予備審査をすることを要しない次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

請求の範囲 7 に記載された発明は、人の身体の診断方法に係わるものである。

☐ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 7 の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 7 が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

☒ 請求の範囲 7 について、国際調査報告が作成されていない。

2. ヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書 C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査をすることができない。

☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

| | | | |
|----------------|-------|--------|---|
| 新規性 (N) | 請求の範囲 | 1-6, 8 | 有 |
| | 請求の範囲 | | 無 |
| 進歩性 (IS) | 請求の範囲 | 1-6, 8 | 有 |
| | 請求の範囲 | | 無 |
| 産業上の利用可能性 (IA) | 請求の範囲 | 1-6, 8 | 有 |
| | 請求の範囲 | | 無 |

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

文献1: WO, 98/51791, A1 (塩澤 俊一) 19.11月.1998 (19.11.98)

文献2: Dina Ron et al. "Molecular cloning and characterization of the human *dbl* proto-oncogene: evidence that its overexpression is sufficient to transform NIH/3T3 cells" The EMBO Journal (1988) Vol.7 No.8 P.2465-2473

文献3: Shunichi Shiozawa et al. "Identification of the gene loci that predispose to rheumatoid arthritis" (1998) International Immunology Vol.10 No.12 P.1891-1895

請求の範囲1-6及び8に記載された発明は、国際調査報告で引用された文献1-3に対して進歩性を有する。文献1-3にはプロトオンコジーンD b 1 遺伝子の変異部分についての具体的記載はなく、しかも、その点は、本願優先日時の技術水準を考慮しても、文献1-3の記載から当業者といえども容易に想到し得ないものである。

Ⅶ. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

請求の範囲 8 の「D b 1 欠損を機能的に補完する方法」について、明細書中に具体的な記載はなく、単に、「タンパク質や低分子化合物を使用する等の方法が挙げられる」と記載されているのみである。（必要なら明細書第 9 頁参照。）

ここで、本願出願時の技術常識を考慮したとしても、具体的には何をどのように用いて「D b 1 欠損を機能的に補完」するのかは、上記記載のみからでは、当業者といえども不明なことである。

よって、請求の範囲 8 に記載された発明は、明細書による十分な裏付けがないものと認められる。



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

| | | |
|---|-----------|--|
| <p>(51) 国際特許分類7 C12N 15/12, C12Q 1/68, C07K 14/47, 16/18</p> | <p>A1</p> | <p>(11) 国際公開番号 WO00/56888</p> <p>(43) 国際公開日 2000年9月28日(28.09.00)</p> |
| <p>(21) 国際出願番号 PCT/JP00/01697</p> <p>(22) 国際出願日 2000年3月21日(21.03.00)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平11/116933 1999年3月20日(20.03.99) JP</p> <p>(71) 出願人 ; および (72) 発明者 塩澤俊一(SHIOZAWA, Shunichi)[JP/JP] 〒651-2274 兵庫県神戸市西区竹の台2丁目11-6 Hyogo, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人(米国についてのみ) 駒井浩一郎(KOMAI, Koichiro)[JP/JP] 〒665-0802 兵庫県宝塚市花屋敷荘園1-12-8 Hyogo, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 西澤利夫(NISHIZAWA, Toshio) 〒150-0042 東京都渋谷区宇田川町37-10 麻仁ビル6階 Tokyo, (JP)</p> | | <p>(81) 指定国 AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p> |
| <p>(54)Title: RHEUMATOID ARTHRITIS GENE AND METHOD FOR DIAGNOSING RHEUMATOID ARTHRITIS</p> <p>(54)発明の名称 慢性関節リウマチの疾患遺伝子と慢性関節リウマチの診断方法</p> <p>(57) Abstract A rheumatoid arthritis gene occurring in human X chromosome which is a variant sequence of a proto-oncogene Dbl gene transcribing an mRNA encoding a cDNA the sequence of the bases at the 2679- to 2952-positions of which is represented by SEQ ID NO:1, characterized by transcribing an mRNA encoding a cDNA wherein the region of the bases from the 19- to 274-positions of SEQ ID NO:1 has been substituted by the sequence represented by SEQ ID NO:2; and a method for diagnosing rheumatoid arthritis characterized by detecting the occurrence of mRNA of the above-described gene or its expression product in a biological sample.</p> | | |

(57)要約

ヒト X 染色体に存在する慢性関節リウマチの疾患遺伝子と、慢性関節リウマチの診断方法として、配列番号 1 にその第 2679 番目塩基から第 2952 番目塩基までの配列を示した cDNA をコードしている mRNA を転写するプロトオンコジーン Dbl 遺伝子の変異配列であって、配列番号 1 の第 19 番目塩基から第 274 番目塩基までの領域が配列番号 2 の配列に置換されている cDNA をコードしている mRNA を転写することを特徴とする慢性関節リウマチの疾患遺伝子と、生体試料中におけるこの疾患遺伝子の mRNA またはその発現産物の存在を検出することを特徴とする慢性関節リウマチの診断方法を提供する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

| | | | | | | | |
|----|--------------|----|---------|----|----------------|----|------------|
| AE | アラブ首長国連邦 | DM | ドミニカ | KZ | カザフスタン | RU | ロシア |
| AG | アンティグア・バーブーダ | DZ | アルジェリア | LC | セントルシア | SD | スーダン |
| AL | アルバニア | EE | エストニア | LI | リヒテンシュタイン | SE | スウェーデン |
| AM | アルメニア | ES | スペイン | LK | スリ・ランカ | SG | シンガポール |
| AT | オーストリア | FI | フィンランド | LR | リベリア | SI | スロヴェニア |
| AU | オーストラリア | FR | フランス | LS | レソト | SK | スロヴァキア |
| AZ | アゼルバイジャン | GA | ガボン | LT | リトアニア | SL | シエラ・レオネ |
| BA | ボスニア・ヘルツェゴビナ | GB | 英国 | LU | ルクセンブルグ | SN | セネガル |
| BB | バルバドス | GD | グレナダ | LV | ラトヴィア | SZ | スワジランド |
| BE | ベルギー | GE | グルジア | MA | モロッコ | TD | チャード |
| BF | ブルキナ・ファソ | GH | ガーナ | MC | モナコ | TG | トーゴ |
| BG | ブルガリア | GM | ガンビア | MD | モルドヴァ | TJ | タジキスタン |
| BJ | ベナン | GN | ギニア | MG | マダガスカル | TM | トルクメニスタン |
| BR | ブラジル | GR | ギリシャ | MK | マケドニア旧ユーゴスラヴィア | TR | トルコ |
| BY | ベラルーシ | GW | ギニア・ビサオ | | 共和国 | TT | トリニダード・トバゴ |
| CA | カナダ | HR | クロアチア | ML | マリ | TZ | タンザニア |
| CF | 中央アフリカ | HU | ハンガリー | MN | モンゴル | UA | ウクライナ |
| CG | コンゴ | ID | インドネシア | MR | モーリタニア | UG | ウガンダ |
| CH | スイス | IE | アイルランド | MW | マラウイ | US | 米国 |
| CI | コートジボアール | IL | イスラエル | MX | メキシコ | UZ | ウズベキスタン |
| CM | カメルーン | IN | インド | MZ | モザンビーク | VN | ヴェトナム |
| CN | 中国 | IS | アイスランド | NE | ニジェール | YU | ユーゴスラヴィア |
| CR | コスタ・リカ | IT | イタリア | NL | オランダ | ZA | 南アフリカ共和国 |
| CU | キューバ | JP | 日本 | NO | ノルウェー | ZW | ジンバブエ |
| CY | キプロス | KE | ケニア | NZ | ニュージーランド | | |
| CZ | チェッコ | KG | キルギスタン | PL | ポーランド | | |
| DE | ドイツ | KP | 北朝鮮 | PT | ポルトガル | | |
| DK | デンマーク | KR | 韓国 | RO | ルーマニア | | |

明 細 書

慢性関節リウマチの疾患遺伝子と

慢性関節リウマチの診断方法

5

技術分野

この出願の発明は、ヒトX染色体に位置する慢性関節リウマチの疾患遺伝子と、この疾患遺伝子またはその発現産物の存在を検出することを特徴とする慢性関節リウマチ

10 の診断方法に関するものである。

背景技術

慢性関節リウマチの原因である関節炎と関節破壊の様相、特にそれらの病理過程は種々の研究を通じて次第に明らかになりつつあるが、この慢性関節リウマチの属する自己免疫疾患の多くは多数の原因因子が重なり合ってはじめて疾患へと発展・増悪するため、疾患の正しい解明と適切な治療を行うには、多因子相互作用の本体そのものが明らかにされなければならない。

15

慢性関節リウマチは、世界的には罹患率1%以下の疾患であるが(N. Engl. J. Med. 322:1277-1289, 1990)、患者の同胞では約8%以上が発症する(Cell, 85:311-318, 1996)ことから、その原因因子として何らかの遺伝的要因が想定されている。しかしながら、疾患の遺伝的因子を特定するため通常用いられている分子遺伝学的手法や遺伝子工学的手法は、自己免疫疾患に対しては有効に機能してい

20

25

- ない。何故ならば、自己免疫疾患は、癌のように突然変異を生じた１個の遺伝子の異常増殖という生物学的に単純な機構によって発症するものではないからである。また、疾患の遺伝的基盤を求める従来の古典的遺伝学の手法は、自己免疫疾患が多因子遺伝によることを明確にしたものの、その内部あるいは本体に立ち入ることはできなかった。このように、慢性関節リウマチに関連する遺伝子については、その実体はもとより、染色体上の遺伝子座位すら全く捉えられていないのが実状であった。
- これに対して、この出願の発明者等は、マイクロサテライトマーカを用いた連鎖解析を慢性リウマチ患者およびその血縁者に対して実施することにより、慢性関節リウマチの疾患遺伝子が位置する３カ所の遺伝子座を特定し（*International Immunology* 10(12):1891-1895, 1998; *Journal of Clinical Rheumatology* 4(3):156-158, 1998）、以下の疾患遺伝子を既に特許出願している（PCT/JP 98/01665号）。
- (1) ヒト第１染色体の、マイクロサテライトマーカ D1S214 および／または D1S253 がハイブリダイズする DNA 配列から ±1 センチモルガン以内に位置する慢性関節リウマチの疾患遺伝子。
- (2) ヒト第８染色体の、マイクロサテライトマーカ D8S556 がハイブリダイズする DNA 配列から ±1 センチモルガン以内に位置する慢性関節リウマチの疾患遺伝子。
- (3) ヒト X 染色体の、マイクロサテライトマーカ D

X S 1 0 0 1、D X S 1 0 4 7、D X S 1 2 0 5、D X S 1 2 2 7 および／または D X S 1 2 3 2 がハイブリダイズする D N A 配列から ±1 センチモルガン以内に位置する慢性関節リウマチの疾患遺伝子。

- 5 この出願の発明者等は、前記先願発明の各疾患遺伝子についてさらに研究を続けた結果、前記(3)の疾患遺伝子についてその具体的遺伝子を特定し、その分子構造を決定した。

10 発明の開示

この出願は、前記の課題を解決する発明として、配列番号 1 にその第 2679 番目塩基から第 2952 番目塩基までの配列を示した c D N A をコードしている m R N A を転写するプロトオンコジーン D b l 遺伝子の変異配列であって、配列番号 1 の第 20 番目塩基から第 274 番目塩基までの領域が配列番号 2 の配列に置換されている c D N A をコードしている m R N A を転写することを特徴とする慢性関節リウマチの疾患遺伝子を提供する。

またこの出願は、前記疾患遺伝子の c D N A、この c D N A の一部配列からなる D N A 断片、前記疾患遺伝子が発現するタンパク質、このタンパク質の一部からなるペプチド、および前記タンパク質に対する抗体を提供する。

さらにこの出願は、生体試料中における前記疾患遺伝子の m R N A または前記タンパク質の存在を検出することを特徴とする慢性関節リウマチの診断方法を提供する。

この出願は、またさらに、D b l 欠損を機能的に補完する

方法を提供する。

発明を実施するための最良の形態

上記のとおりの特徴を有するこの出願の発明について、

5 以下にその実施の形態を説明する。

この発明の慢性関節リウマチ疾患遺伝子（以下「RA 疾患遺伝子」と記載する）は、後記する実施例の方法によりヒト X 染色体から単離された遺伝子であり、公知のプロトオンコジーン Dbl 遺伝子（EMBO J. 7(8):2465-2473, 1988 ;
10 GenBank Accession No. X12556）の変異配列である。すなわち、この Dbl 遺伝子は、配列番号 1 に第 2679 番目塩基から第 2952 番目塩基までの配列を示した cDNA をコードしている mRNA を転写するが、この変異遺伝子の cDNA においては、配列番号 1 の第 241 番目塩基から 3' 側の配
15 列が第 18 番目塩基下流に結合してアミノ酸翻訳のフレームシフトを誘起した結果、配列番号 1 の第 19 番目塩基から第 274 番目塩基までの領域が配列番号 2 の配列に置換されている。図 1 は、健常者（Normal）における Dbl 遺伝子 cDNA の第 2679 番目塩基から第 2952 番目塩基までの塩基配列
20 （配列番号 1 と同一）と、これに対応する RA 疾患遺伝子の塩基配列、並びにこれらの塩基配列がそれぞれコードするアミノ酸残基（1 文字表記）の配列である。

なお、一般にヒト遺伝子は個体差による多型が頻繁に認められる。従って配列番号 2 において、1 または複数個の
25 ヌクレオチドの付加、欠失および／または他のヌクレオチドによる置換がなされている cDNA をコードする遺伝子

もこの発明のRA疾患遺伝子に含まれる。同様に、これらの塩基の変更によって生じる1または複数個のアミノ酸の付加、欠失および／または他のアミノ酸による置換がなされているタンパク質もこの発明に含まれる。

5 この発明のcDNAは、例えば、後記する実施例の方法に従って単離することができる。また、この発明のcDNAは、例えば慢性関節リウマチ患者の細胞から抽出したポリ(A)+RNAを鋳型として、公知の方法(Mol. Cell. Biol. 2:161-170, 1982; J. Gene 25:263-269, 1983; Gene 10 150:243-250, 1994)により作成したcDNAライブラリーからクローン化することができる。クローン化の方法としては、例えば、この発明によって提供される配列情報に基づいてオリゴヌクレオチドを合成し、これをプローブとして用いて、公知の方法によりコロニーあるいはプラークハイブリダイゼーションによるスクリーニングを行えばよい。また、目的とするcDNA断片の両末端にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを合成し、これをプライマーとして用いて、慢性リウマチ患者の細胞から単離したmRNAからRT-PCR法により、この発明のcDNAを調製する
20 こともできる。

この発明のDNA断片は、前記cDNAの一部配列であって、配列番号3の塩基配列を含むDNA断片である。すなわち、この配列番号3は図1に下線を付した配列であり、健常者Dbl遺伝子やそのcDNAには存在しない特徴的な
25 領域である。なお、このDNA断片にはセンス鎖およびアンチセンス鎖が含まれる。これらのDNA断片は遺伝子診

断用のプローブ等として用いることができる。

この発明のタンパク質は、この発明のRA疾患遺伝子の発現産物であって、そのC末端アミノ酸配列が、配列番号2のアミノ酸配列であるタンパク質である。このタンパク質は、この出願によって提供されるアミノ酸配列に基づき化学合成によってペプチドを調製する方法、あるいはこの出願によって提供されるcDNAを用いて組換えDNA技術で生産する方法などにより取得することができる。例えば、組換えDNA技術によってタンパク質を取得する場合には、この発明のcDNAを有するベクターからインビトロ転写によってRNAを調製し、これを鋳型としてインビトロ翻訳を行なうことにより、タンパク質を得ることができる。またcDNAの翻訳領域を公知の方法により適当な発現ベクターに組換え、この組換えベクターで大腸菌、枯草菌、酵母、動植物細胞等を形質転換すれば、これらの形質転換体でタンパク質を大量に発現させることができる。

この発明のタンパク質をインビトロ翻訳で生産させる場合には、この発明のcDNAの翻訳領域をRNAポリメラーゼプロモーターを有するベクターに組換え、プロモーターに対応するRNAポリメラーゼを含むウサギ網状赤血球溶解物や小麦胚芽抽出物などのインビトロ翻訳系に添加すればよい。RNAポリメラーゼプロモーターとしては、T7、T3、SP6などが例示できる。これらのRNAポリメラーゼプロモーターを含むベクターとしては、pKA1、pCDM8、pT3/T7 18、pT7/3 19、pBluescript IIなどが例示できる。

また、この発明のタンパク質を大腸菌などの微生物で発現させる場合には、微生物中で複製可能なオリジン、プロモーター、リボソーム結合部位、cDNAクローニング部位、ターミネーター等を有する発現ベクターに、この発明
5 のcDNAの翻訳領域を組換えて発現ベクターを作成し、この発現ベクターで宿主細胞を形質転換したのち、得られた形質転換体を培養すればよい。その際、任意の翻訳領域の前後に開始コドンと停止コドンを付加すれば、任意の領域を含むタンパク質断片を得ることができる。あるいは、
10 他のタンパク質との融合タンパク質として発現させることもできる。この融合タンパク質を適当なプロテアーゼで切断することによって目的とするタンパク質のみを取得することもできる。大腸菌用発現ベクターとしては、pUC系、pBluescript II、pET発現システム、pGEX発現シ
15 ステムなどが例示できる。

この発明のタンパク質を真核細胞で発現させる場合には、この発明のcDNAの翻訳領域を、プロモーター、スプライシング領域、ポリ(A)付加部位等を有する真核細胞用発現ベクターに組換え、真核細胞内に導入する。発現ベクター
20 ーとしては、pKA1、pCDM8、pSVK3、pMSG、pSVL、pBK-CMV、pBK-RSV、EBVベクター、pRS、pYES2などが例示できる。真核細胞としては、サル腎臓細胞COS7、チャイニーズハムスター卵巣細胞CHOなどの哺乳動物培養細胞、出芽酵母、
25 分裂酵母、カイコ細胞、アフリカツメガエル卵細胞などが一般に用いられるが、これらに限定されるものではない。

発現ベクターを真核細胞に導入するには、電気穿孔法、リン酸カルシウム法、リポソーム法、DEAEデキストラン法など公知の方法を用いることができる。

上記の方法により原核細胞や真核細胞でタンパク質を発
5 現させたのち、培養物から目的タンパク質を単離精製する
ためには、公知の分離操作を組み合わせで行う。例えば、
尿素などの変性剤や界面活性剤による処理、超音波処理、
酵素消化、塩析や溶媒沈殿法、透析、遠心分離、限外濾過、
ゲル濾過、SDS-PAGE、等電点電気泳動、イオン交
10 換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、アフ
ィニティークロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー
等である。

なお、この発明のタンパク質には、他の任意のタンパク
質との融合蛋白質も含まれる。

15 この発明のペプチドは、少なくとも配列番号2のアミノ
酸配列における一部配列（5アミノ酸残基以上）を含むペ
プチド断片である。このペプチドは抗体を作製するための
抗原等として用いることができる。

この発明の抗体は、前記タンパク質それ自体、またはそ
20 の部分ペプチドを抗原として、公知の方法によりポリクロ
ーナル抗体またはモノクローナル抗体として得ることがで
きる。

この発明の慢性関節リウマチ診断方法は、例えば、被験
者の生体試料（体液、細胞等）におけるRA疾患遺伝子か
25 ら転写される特徴的なmRNAの存在を検出することによ
って行うことができる。そのようなmRNAの検出は、例

例えば、その特徴的配列部分（例えば、図1の下線配列）を含むmRNAをRT-PCR増幅する方法、RA疾患遺伝子mRNAの特徴的配列部分をプローブとしたin vitroハイブリダイゼーション分析やin situ ハイブリダイゼーション分析等により行うことができる。

さらにこの発明の慢性関節リウマチ診断方法は、被験者の生体試料におけるRA疾患遺伝子から発現されるタンパク質の存在を検出することによって行うことができる。このような検出は、例えば、この発明の抗体を用いた酵素免疫アッセイや放射免疫アッセイ等により行うことができる。また、このような遺伝子発現またはタンパク質の検出は、診断キット（例えば、DNAチップ等のハイブリダイゼーション分析キットあるいはELISAキット等の免疫アッセイキット）により行うこともできる。

この発明のDbl欠損を補完的方法としては、タンパク質や低分子化合物を使用する等の方法が挙げられる。

実施例

以下、実施例を示してこの発明のRA疾患遺伝子についてさらに詳細かつ具体的に説明するが、この発明は以下の例によって限定されるものではない。

<実施例1> RA疾患遺伝子の同定

遺伝解析をマイクロサテライトマーカーを用いた罹患同胞対検索法によって行うためにリウマチ患者家系DNAを患者2、健常者1を1家系としてグアニジンチオシアネート法（日本輸血学会雑誌40(2), 413）により末梢血から調

製した。さらに多型性 (heterozygosity) が約0.7を越えるマイクロサテライトマーカ－を、発明者等が既に明らかにした候補遺伝子座 (International Immunology 10(12):1891-1895; Journal of Clinical Rheumatology 4(3):156-158, 1998) の範囲内について11マーカ－ (DXS1047, DXS8072, DXS8041, DXS8094, DXS1192, DXS1205, DXS1227, DXS8106, DXS8043, DXS8028, DXS1200) を選択 (Nature 360, 1996) し、それぞれの部位を増幅できる蛍光標識プライマーをPerkin Elmer社にて合成した。プライマー配列は前記文献に記載されており公知である。各マーカ－領域の単離は下記の条件のPCR反応により行った。反応液組成はプライマー5pmol、鋳型DNA約0.5 μ g、Buffer II (Perkin Elmer社) 1.5 μ l、2mMのdNTP Mix (Perkin Elmer社) を1.0 μ l、Ampli Taq Gold酵素 (Perkin Elmer社) 0.12 μ l、25mMのMgCl₂ (Perkin Elmer社) を0.9 μ l混合し、滅菌水で全量を15 μ lに調整した。反応はMJ Research社製サーマルサイクラー (PTC200型) を用い、まず酵素活性化行程として95°C12分1サイクル、熱変性94°C1分、プライマーアニーリング47°C1分、伸長反応72°C2分の行程を10サイクル繰り返した後、熱変性89°C1分、プライマーアニーリング47°C1分、伸長反応72°C2分の行程を20サイクル繰り返した。得られた各DNA断片はそれぞれ試薬添付書に従ってGenescan用サイズマーカ－ (Perkin Elmer社) と同時に泳動することでDNAシーケンサー (Perkin Elmer社製ABI377型) にて分析を行い、付属ソフトウェアGenescanおよびGenotyperを用いて鎖長解析を行った。得

られたデータは一般公開されているMapmaker Sibsソフトウェア (Am J Hum Genet, 57, 439-454, 1995) を用いてUnixシステム上で遺伝連鎖解析を行い、最大Lod値を単点解析法によって計算した。

- 5 その結果、発明者等が既に明らかにした候補遺伝子座 (International Immunology 10(12):1891-1895; Journal of Clinical Rheumatology 4(3):156-158, 1998) の一つであるDXS1232の0.1cM近傍に位置するDXS984において最大Lod値は2.03を示し、有意な相関が得られた。これをインターネット上国際データベース (Genemap98, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genemap98/>) で検索したところG3 Radiation hybrid map上でDXS984の物理的位置が4259 cR10000(F)であることが判明し、最も近傍にプロトオンコジーンDbl遺伝子が位置していること
- 10 が明らかとなった。

<実施例2> Dbl遺伝子異常の解析

- Dbl遺伝子のcDNAを比較するために、RA患者末梢血からIsogen試薬 (Nippongene社) を用いて調製したトータルRNAからPerkin Elmer社製RT-PCRキットを用いて逆転写反応を行い、cDNAを合成して20 μ lの滅菌水に溶解した。さらにDbl cDNA配列 (Genbank Accession No. X12556) を元にプライマー (配列番号4、5) を合成し (Amersham Pharmacia社)、PCR法によってDbl cDNA配列の一部を単離した。PCRの反応液組成はフ
- 20 ォワードプライマー (配列番号4) およびリバースプライマー (配列番号5) 各10pmol、鋳型DNA約0.1 μ g、LA-PCR

Buffer (宝酒造社) $2.5 \mu\text{l}$ 、 2.5mM の dNTP Mix を $4.0 \mu\text{l}$ 、LA Taq 酵素 (宝酒造社) $0.25 \mu\text{l}$ 、 25mM の MgCl_2 を $2.5 \mu\text{l}$ 混合し、滅菌水で全量を $25 \mu\text{l}$ に調整した。反応は MJ Research 社製 サーマルサイクラー (PTC200型) を用い、熱変性 94°C 30秒、プライマーアニーリング 52°C 30秒、伸長反応 72°C 2分の行程を 35 サイクル 繰り返した。得られた PCR 産物は 1% Agarose L (Nippongene 社) ゲルと Promega 社製 DNA 分子量マーカー (200bp ladder) を用いて TAE 緩衝液中で常法によって電気泳動し、増幅バンドを確認した。その結果、正常鎖長の DNA が 660-bp であるのに対し、一部患者由来の DNA は異常短鎖長 (約 440bp) であることを見出した。

次いで、それぞれの得られたバンドを切り出した後 65°C 10分の行程でゲルを融解し、常法のフェノール抽出法およびエタノール沈殿法により DNA を精製した。得られた DNA は 100ng を鋳型として Perkin Elmer 社製 BigDye terminator サイクルシーケンスキットを用いて添付書に従ってサイクルシーケンス反応および精製を行い、Perkin Elmer 社製 ABI377型 DNA シーケンサーによって配列解析を行った。その結果、前記の異常短鎖長 DNA においては、図 1 に示したように、塩基番号 2697 番目から 2919 番目までの 223-bp が欠損しているために 437-bp となっていることが明らかとなった。これは塩基番号 2698 番目以降の遺伝情報でコードされているアミノ酸欠損を伴い、併せてフレームシフトを誘起することによって通常よりも 65 アミノ酸短い異常ポリペプチド鎖が生じていることを意味する。

産業上の利用可能性

以上詳しく説明したとおり、この出願によって、ヒト
X染色体に存在する慢性関節リウマチの疾患遺伝子が提供
される。これによって、慢性関節リウマチの診断を簡便か
5 つ確実に行うことが可能となる。また、慢性関節リウマチ
の新たな治療法および治療薬剤の開発にも有用である。

請求の範囲

1. 配列番号1にその第2679番目塩基から第2952番目塩基までの配列を示したcDNAをコードしているmRNA
5 を転写するプロトオンコジーンDbl遺伝子の変異配列であ
って、配列番号1の第19番目塩基から第274番目塩基まで
の領域が配列番号2の塩基配列に置換されているcDNA
をコードしているmRNAを転写することを特徴とする慢
性関節リウマチの疾患遺伝子。
- 10 2. 請求項1の疾患遺伝子のcDNA。
3. 請求項1の疾患遺伝子または請求項2のcDNAの
一部であって、配列番号3の塩基配列を含むDNA断片。
4. 請求項1の疾患遺伝子の発現産物であって、C末端
15 のアミノ酸配列が配列番号2のアミノ酸配列であるタンパ
ク質。
5. 請求項4のタンパク質の一部であって、配列番号2
のアミノ酸配列における一部配列を含むペプチド。
6. 請求項4のタンパク質または請求項5のペプチドに
対する抗体。
- 20 7. 生体試料中における請求項1の疾患遺伝子のmRNA
または請求項4のタンパク質の存在を検出することを特
徴とする慢性関節リウマチの診断方法。
8. Dbl欠損を機能的に補完する方法。

2680 2690 2700 2710 2720 2730
Normal; tcttcagcagaatgatgaaagcaacaggagctttataagtaactgaggaactgaattg
RA ; tcttcagcagaatgatgaaagaccctgtgtcggagatggctctcctatatattgatgaagctact
L Q Q N D E K Q Q G A F I S T E T E L
L Q Q N D E D L C R R W L S Y I D E A T

2740 2750 2760 2770 2780 2790
gaacacaccagcactgtgtggaggctctgtgaggcaattgcgtcagttcaggcagaagca
atgtcaaatggcaagtag
E H T S T V V E V C E A I A S V Q A E A
M S N G K *

2800 2810 2820 2830 2840 2850 2860
aatacagtttggactgaggcatcacaaatctgtagaaatctctgaagaacctgcggaatggt
N T V W T E A S Q S V E I S E E P A E W

2870 2880 2890 2900 2910
caagcaactatttctaccccacttatgatgaaaaatgaagaagaaaaataggccccctcatg
S S N Y F Y P T Y D E N E E E N R P L M

2920 2930 2940 2950
agacctgtgtcggagatggctctcctatatattga
R P V S E M A L L Y *

配 列 表

<110> 塩澤俊一

<120> 慢性関節リウマチの疾患遺伝子と慢性関節リウマチの診断方法

<160> 5

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 274

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<221> CDS

<222> (2).. (271)

<308> GenBank Accession No. X12556

<400> 1

```

t ctt cag cag aat gat gaa aag caa cag gga gct ttt ata agt act gag 49
Leu Gln Gln Asn Asp Glu Lys Gln Gln Gly Ala Phe Ile Ser Thr Glu
      1             5             10             15
gaa act gaa ttg gaa cac acc agc act gtg gtg gag gtc tgt gag gca 97
Glu Thr Glu Leu Glu His Thr Ser Thr Val Val Glu Val Cys Glu Ala
      20             25             30
att gcg tca gtt cag gca gaa gca aat aca gtt tgg act gag gca tca 145
Ile Ala Ser Val Gln Ala Glu Ala Asn Thr Val Trp Thr Glu Ala Ser
      35             40             45
caa tct gta gaa atc tct gaa gaa cct gcg gaa tgg tca agc aac tat 193
Gln Ser Val Glu Ile Ser Glu Glu Pro Ala Glu Trp Ser Ser Asn Tyr
      50             55             60
ttc tac ccc act tat gat gaa aat gaa gaa gaa aat agg ccc ctc atg 241
Phe Tyr Pro Thr Tyr Asp Glu Asn Glu Glu Glu Asn Arg Pro Leu Met
      65             70             75             80
aga cct gtg tgg gag atg gct ctc cta tat tga 274
Arg Pro Val Ser Glu Met Ala Leu Leu Tyr
      85             90

```

<210> 2

<211> 61

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<221> CDS

<222> (1)..(60)

<400> 2

a gac ctg tgt cgg aga tgg ctc tcc tat att gat gaa gct act atg tca 49

Asp Leu Cys Arg Arg Trp Leu Ser Tyr Ile Asp Glu Ala Thr Met Ser

1

5

10

15

aat ggc aag tag

61

Asn Gly Lys

19

<210> 3

<211> 10

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

atgaagacct

10

<210> 4

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Synthesized oligonucleotide

<400> 4

ggctagattc aaaccaatg

19

<210> 5

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Synthesized oligonucleotide

<400> 5

gctacttgcc atttgac

17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/01697

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/12, C12Q1/68, C07K14/47, C07K16/18

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/12, C12Q1/68, C07K14/47, C07K16/18

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

SwissProt/PIR/GeneSeq, MEDLINE (STN),
Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| A | WO, 98/51791, A1 (Shunichi Shiozawa), 19 November, 1998 (19.11.98) & AU, 9867486, A | 1-6, 8 |
| A | Dina Ron et al. "Molecular cloning and characterization of the human db1 proto-oncogene: evidence that its over expression is sufficient to transform NIH/3T3 cells" The EMBO Journal (1988) Vol.7 No.8 P.2465-2473 | 1-6, 8 |
| A | Shunichi Shiozawa et al. "Identification of the gene loci that predispose to rheumatoid arthritis" (1998) International Immunology, Vol.10 No.12 P.1891-1895 | 1-6, 8 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
29 June, 2000 (29.06.00)

Date of mailing of the international search report
11 July, 2000 (11.07.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/01697

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 7
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The subject matter of claim 7 relates to a method for diagnosis of the human body.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ C12N15/12, C12Q1/68, C07K14/47, C07K16/18

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ C12N15/12, C12Q1/68, C07K14/47, C07K16/18

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, MEDLINE (STN),
Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| A | WO, 98/51791, A1 (塩澤 俊一) 19.11月.1998 (19.11.98) & AU, 9867486, A | 1-6, 8 |
| A | Dina Ron et al. "Molecular cloning and characterization of the human <i>dbl</i> proto-oncogene: evidence that its overexpression is sufficient to transform NIH/3T3 cells" The EMBO Journal (1988) Vol.7 No.8 P.2465-2473 | 1-6, 8 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

29.06.00

国際調査報告の発送日

11.07.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小暮 道明



4B

9358

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|---|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| A | Shunichi Shiozawa et al. "Identification of the gene loci that predispose to rheumatoid arthritis" (1998) International Immunology Vol.10 No.12 P.1891-1895 | 1-6, 8 |

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

- 次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとの国際調査機関は認めた。

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。